

実験的歯の移動に伴う疼痛に対する 2種の歯科用レーザーの照射効果

土 屋 隆 子

明海大学大学院歯学研究科

歯学専攻

(指導：須 田 直 人 教授)

Effect of two types of dental laser irradiation on pain elicited by experimental tooth movement

Takako TSUCHIYA

Meikai University Graduate School of Dentistry

(Mentor: Prof. Naoto SUDA)

要 旨

矯正治療時の疼痛緩和には様々な方法が試みられおり，歯科用レーザーの照射もその一つである．そこで，実験的な矯正力負荷に伴う疼痛を開口反射活性の変化で定量評価可能な動物モデルを用いて，炭酸ガス（CO₂：10,600 nm）と半導体（808 nm）の 2 種の歯科用レーザー照射の有効性と至適照射条件を検討した．矯正力負荷のないラットでは，歯科用レーザー照射側の開口反射誘発閾値（ μ A）は未照射側と比較して有意な差はなかった．矯正力負荷 1 日後のラットにおいて，CO₂ レーザー照射には有意な鎮痛効果があったが，半導体レーザーにはその効果はなかった．一方，矯正力負荷直後に照射した 2 種のレーザーにより，照射 1 日後にいずれも有意な鎮痛効果が得られた．以上の結果から CO₂ レーザーと半導体レーザーは発痛抑制が期待でき，さらに CO₂ レーザーでは疼痛惹起にも緩和が可能であったと考えられる．このような 2 種のレーザー間における効果の差やそのメカニズムを明らかにすることで，レーザーの作用機序解明につながると考えられる．

牽引用語：鎮痛，歯科用レーザー，炭酸ガスレーザー，半導体レーザー，開口反射誘発閾値

Abstract

Analgesic approaches for pain relief during orthodontic treatment have been carried out and the irradiation by dental laser is one of them. In this study, the analgesic effect and the appropriate irradiation procedures of CO₂ (10,600 nm) or diode lasers (808 nm), those have distinct illuminants and wave-lengths, was quantitatively investigated by measuring of the jaw-opening reflex excitability in the orthodontic-force applied animal model. In this model, the application of orthodontic-force to the right maxillary first molar elicited pain to the rat examined by the right side threshold (μ A) for inducing jaw-opening reflex. CO₂, but not diode, laser irradiation at one day after orthodontic-force application significantly suppressed pain. On the other hand, neither CO₂ nor diode laser irradiation, altered the jaw-opening reflex excitability in animals without applying orthodontic-force. The irradiation by both CO₂ and diode lasers immediately after orthodontic-force application significantly suppressed pain at one day after irradiation. Taken together, both CO₂ and diode lasers are able to prevent the orthodontic-force related pain. CO₂ laser irradiation provides analgesic effect on the pain already originated. Further investigations for elucidating the mechanism of analgesic effect induced by laser are required.

Keywords : analgesics, dental laser, CO₂ laser, diode laser, jaw-opening reflex

緒 言

矯正歯科治療において、多くの患者が矯正力負荷に伴い疼痛を訴えるが^{1,2)}、その効果的な処置や対応は未だ確立されていない。現在、この疼痛に対しプロスタグランジン E_2 の産生を阻害して、炎症部位の疼痛閾値を上昇させる酸性非ステロイド性抗炎症薬による疼痛緩和が可能であると報告されている³⁾。しかしながら、プロスタグランジン E_2 は、破骨細胞の分化やその成熟に重要であることから、矯正歯科治療における歯の移動を抑制させることが懸念されている³⁻⁶⁾。

歯科用レーザーは軟組織の切開・凝固の外科処置、歯内療法および顎関節症の疼痛の緩和などの目的で広く使用されている。一方で、歯科用レーザーの照射により、歯の移動を阻害せず疼痛緩和が得られることが示唆され⁷⁾、この分野で期待が大きい。しかしながら、これまで歯科用レーザーによる疼痛緩和の報告は、大部分が Visual Analogue Scale (VAS) によるアンケート調査^{1, 8-11)}や、実験動物のグルーミング^{12,13)}などの評価によるもので、客観性に乏しいものとなっていた。そのため、矯正力負荷に伴う疼痛に対するレーザーの効果や作用機序を解明する上で、鎮痛効果の定量的評価が求められてきた。

そこで、矯正力負荷に伴う疼痛を定量評価可能な動物モデルが開発された¹⁴⁾。このモデルでは矯正力の負荷による疼痛を再現するために、臨床で頻用される Ni-Ti クローズドコイルスプリングが使用され、開口反射活性（開口反射誘発閾値、顎二腹筋活動）の変化により客観的に疼痛が評価される¹⁴⁾。本研究では、さまざまな歯科用レー

ザーの中から鎮痛効果の報告がある炭酸ガス (CO_2 : 10,600 nm)^{9, 15)}と半導体 (808 nm)^{8, 10-11)}の 2 種のレーザーを選択した. これらレーザーは過去に鎮痛効果の報告はあるものの, それぞれのレーザーによる作用機序についてはわかっていない. そこで, この評価系を用いて CO_2 レーザーと半導体レーザー照射の有効性とその至適な照射条件を検討することを目的として実験を行った.

材料と方法

1. 実験動物と実験デザイン

本研究は、明海大学歯学部動物実験倫理委員会における承認（A1837）を受け、明海大学歯学部動物実験実施規定に基づき行われた。

実験には、10～11 週齢の Wistar 系雄性ラット（三協ラボサービス，東京）を用いた（ $n = 144$ ，各群 $n = 8$ （群の詳細は後述する））。飼育環境は、明暗サイクル 12 時間，恒温（ 23 ± 1 °C），給水摂食非制限とした。なお，矯正装置装着後は粉末状飼料（MF，オリエンタル酵母工業，東京）を自由摂取させた。

矯正力を負荷しないラットを control 群とした。Control 群は，開口反射活性を検討した直後に，後述するように歯科用レーザー（CO₂ もしくは半導体レーザー：30，600 秒，control 群：計 4 群）を右側の上顎第一臼歯部に照射し，引き続き 60 分間にわたり開口反射活性を検討した。

Irradiation（IR）群のラットは，矯正力負荷 1 日後に開口反射活性を検討した直後，歯科用レーザー（CO₂ レーザー：15，30，600 秒，半導体レーザー：30，600 秒）を照射し，その後 60 分間にわたり開口反射活性を検討した。また，IR 群のラットの一部は，矯正力負荷 1 日後に開口反射活性を検討した直後，30 秒間ガイド光のみを照射し，その後 60 分間にわたり開口反射活性を検討した。

矯正力を負荷した 1，3，7 日後に開口反射活性を検討したラットを，各々 D1 群，D3 群，D7 群とした（IR 群：計 8 群）。また，矯正力負荷直後にレーザーを照射し，

その 1, 3, 7 日後に開口反射活性を検討したラットを各々 Pre-Irradiation (PI)-D1 群, PI-D3 群, PI-D7 群 (PI 群: 計 6 群) とした.

2. 実験的矯正力の負荷

麻酔濃度 3.0%; 1.0 l/min のイソフルラン麻酔下で, 侵害受容反射 (下肢屈曲反射) の発現がないことを確認したうえで, ラットの上顎右側第一臼歯歯頸部にリガチャーワイヤー (506-01, TOMY, 東京) を巻き付け, 上顎門歯にメッシュ状のバンド (110-00, TOMY, 東京) を光重合型レジンセメント (オプチバンド・ウルトラ, 740-0294, カボデンタルシステムズジャパン, 東京) にて固定し, それらを用いて 50g 重の Ni-Ti クローズドコイルスプリング (A855-186, バイオデント, 東京) の両端を上顎右側第一臼歯と上顎門歯間に装着した (Fig. 1A). Ni-Ti クローズドコイルスプリングによる矯正力は, 口腔内においてテンションゲージ (22-955, YDM, 東京) を使用し, 50 g 重の矯正力が負荷されたことを確認した.

3. 歯科用レーザー

本モデルに対する歯科用レーザーの鎮痛効果と作用機序を検討するため, 生体反応が異なる 2 種の歯科用レーザーを使用した. 今回選択した歯科用レーザーは, 組織表面吸収型である CO₂ レーザー (オペレーター PRO, YOSHIDA, 東京) と, 組織透過型である半導体レーザー (オペレーター Filio, YOSHIDA, 東京) である.

4. レーザー照射条件

照射部位は上顎右側第一臼歯周囲とし、上顎左側臼歯にレーザーが照射されないように、正中口蓋縫合から左側臼歯頬側歯肉までをシリコンゴム印象材（682864，ヨシダ，東京）で覆い遮光した．波長：CO₂（10,600 nm），半導体（808 nm），レーザー出力：0.5 W，連続波（CW），照射時間：CO₂（15 秒，30 秒，600 秒），半導体（30 秒，600 秒），照射面積は 1.67 cm²に統一した（Fig. 1B）．各レーザー照射時間の 1 cm²熱量（J）は，15 秒：4.5 J/cm²，30 秒：9.0 J/cm²，600 秒：179.3 J/cm²とした．レーザー出力と 1 cm²あたりの熱量を両者で統一した．照射距離は，予備実験よりラットやヒトへ疼痛を生じない CO₂ レーザーの最小の照射距離を検討し，20 cm と設定した．この照射距離を基に，照射面積（1.67 cm²），焦点径（CO₂：φ 0.4 mm，半導体：φ 0.2 mm），拡散量（CO₂：4.4°，半導体：25.4°）から半導体レーザーの照射距離 3.2 cm を算出した．

また，実験に使用したレーザーはいずれも半導体レーザーによるガイド光が照射される．CO₂ レーザーと半導体レーザーのガイド光の波長は，各々 1,400 nm と 532 nm であった．

5. 開口反射誘発閾値の測定

5-1. 筋電図採取用ワイヤーと刺激用電極の留置

麻酔濃度 2.0%; 1.0 l/min のイソフルラン全身麻酔下のラットに，気管挿管を行い気

道確保した後、麻酔濃度を 2.0 % に保ち、保温マット (37 °C, BWT-100, バイオリサーチ, 大阪) 上で体温を管理した. 続いて、顎下部の皮膚を切開し、両側顎二腹筋前腹に筋電図採取用ワイヤーとしてテフロンコーティングワイヤー (791400, 直径: 203 μm , A-M Systems, U.S.A.) の先端約 1.0 mm の金属面を露出させ留置し、電気刺激を与え留置部位の確認を行った. その後、四肢を固定し、開口させたラットの上顎両側第一臼歯の頬側と口蓋側歯肉部にエナメルワイヤー (直径: 100 μm , 多摩川電線, 東京) の切断面の金属を露出させ留置し、刺激用電極とした (Fig. 1A).

5-2. 開口反射誘発閾値比

電極留置後、麻酔濃度を 1.0~1.5%; 1.0 l/min まで減量し、浅麻酔状態のラットで実験を行った. なお、麻酔濃度の評価はラットの後肢へ刺激を与えて誘発される侵害受容反射 (下肢屈曲反射) の発現ならびに全身麻酔の安定性を指標とした. 電気刺激装置 (Spike2 Ver.8, Micro1401-3, Cambridge Electronic Design, U.K. ; ISO-Flex, フナコシ, 東京) を使用し、上顎右側第一臼歯部歯肉, 左側第一臼歯部歯肉に順次電流刺激 (0.2 Hz, 5 trains) を行い顎二腹筋の筋活動を測定した.

電流刺激は、顎二腹筋の筋活動が誘発されるまで段階的に 20 μA ずつ強度を上昇させた. 5 回刺激のうち 3 回以上の頻度で一定の反応潜時 (latency) で顎二腹筋筋活動を誘発する刺激強度を開口反射誘発閾値とし、対照側 (左側) と移動側 (右側) における開口反射誘発閾値を比較することで、矯正力に誘発された疼痛を評価した. また、

閾値ならびに閾上刺激 ($\times 1.5$, $\times 2.0$, $\times 3.0$) によって誘発された開口反射の顎二腹筋活動 (latency (ms), 活動時間 : duration (ms), 筋活動強度 : area under the curve (AUC % of Threshold (Th)) を比較することで, 矯正力負荷によって生じた疼痛より生じる開口反射活性の変化を解析した (Fig. 2).

開口反射誘発閾値の測定は, 開口反射誘発閾値を測定した後に, control 群では 30 秒, 600 秒間の CO₂ レーザーあるいは 30 秒, 600 秒間の半導体レーザーを照射した. IR 群では開口反射誘発閾値を測定した後に, 15 秒, 30 秒, 600 秒間の CO₂ レーザーあるいは 30 秒, 600 秒間の半導体レーザーを照射した. レーザー照射後より 30 分間隔で計 60 分間測定を行った. レーザー照射前 (Before Irradiation: BI), 照射直後 (Post 0), 照射 30 分後 (Post 30), 照射 60 分後 (Post 60) の 4 時点で, control 群と IR 群における開口反射誘発閾値を測定した.

Control 群と IR 群における疼痛の指標は, レーザー照射前の左側の開口反射誘発閾値を分母とし, 左右側の開口反射誘発閾値を分子とした百分率 (左・右側の開口反射誘発閾値 (μA) / BI 時の左側の開口反射誘発閾値 (μA)) として算出される開口反射誘発閾値比 (TH 比) を評価に用いた.

D1 群, D3 群, D7 群, PI-D1 群, PI-D3 群, PI-D7 群における疼痛の指標は, 左側の開口反射誘発閾値を分母とし, 右側の開口反射誘発閾値を分子とした百分率 (右側の開口反射誘発閾値 (μA) / 左側の開口反射誘発閾値 (μA)) として算出される開口反射誘発閾値比 (TH 比) を評価に用いた.

6. レーザー照射領域の口腔内温度測定

レーザー照射領域のラット口腔粘膜の温度変化を検討するために、放射温度計 (IT-545NH, HORIBA, 京都) を用いて、粘膜の温度を測定した。放射温度計の測定方法は、レーザー照射領域の中心部を、放射温度計の LED マーカーより焦点を合わせ、最小 30 mm の距離 (ϕ 2.5mm) で測定した。

7. 統計

数値の表示は、平均 \pm 標準誤差とした。群間内の各計測における比較では one-way analysis of variance (ANOVA) を行った後、Bonferroni *post hoc* test、閾値ならびに閾上刺激に誘発された顎二腹筋活動の左右側間での比較は、two-way analysis of variance (ANOVA) を行った後、Bonferroni *post hoc* test、各レーザー照射におけるラットの口腔内の温度変化の比較には、同レーザー間の照射前後の比較に paired *t*-test、各レーザー間での比較では Student's *t*-test により統計解析を行い、 $p < 0.05$ を有意水準とした。統計ソフトには、ORIGIN (Origin Lab Corporation, MA, USA) を用いた。

結 果

1. Control 群の開口反射特性に対するレーザー照射の影響

レーザー照射前の control 群の上顎両側第一臼歯歯肉に電気刺激を与え、TH 比を測定すると、個体間で数値の差はあるものの、同一個体では両側の TH 比に有意な差はなかった (Fig. 3A-D : BI). その後、右側第一臼歯周囲に 2 種のレーザーを照射し、同様に開口反射活性を検討した.

Control 群に対する CO₂ レーザーの 30 秒間照射により、照射後 60 分間に両側の TH 比がわずかに上昇したが (左側 : $< 9.7 \pm 9.0\%$, 右側 : $< 11.1 \pm 6.3\%$), 両側とも照射前と比較して有意な差はなかった. また, 両側の TH 比間にも有意な差はなかった (Fig. 3A).

CO₂ レーザーの 600 秒間照射により、30 秒間照射と同様に、照射後 60 分間に両側の TH 比がわずかに上昇したが (左側 : $< 11.9 \pm 5.8\%$, 右側 : $< 13.8 \pm 6.8\%$), 両側とも照射前と比較して有意な差はなかった. また, 両側の TH 比間にも有意な差はなかった (Fig. 3B).

半導体レーザーの照射により、CO₂ レーザーと同様に、照射後 60 分間に両側の TH 比がわずかに上昇したが (30 秒 : 左側 : $< 12.5 \pm 8.4\%$, 右側 : $< 11.4 \pm 7.9\%$, 600 秒 : 左側 : $< 24.7 \pm 7.4\%$, 右側 : $< 23.5 \pm 9.4\%$), 両側とも照射前と比較して有意な差はなかった. また, 両側の TH 比間にも有意な差はなかった (Fig. 3C & D).

開口反射閾値を誘発した刺激強度を $\times 1.5$, $\times 2.0$, $\times 3.0$ とした閾上刺激を与えると,

開口反射活性は上昇することが知られ、刺激強度の上昇に伴う顎二腹筋活動の latency の有意な減少と、duration と AUC の有意な上昇として認められる¹⁴⁾。そこで、control 群においてレーザー照射の閾上刺激による筋活動変化への影響を検討した。その結果、CO₂ レーザー（30 秒間照射の結果を Fig. 4 に示す。600 秒間照射も筋活動に影響はなかった（図は示さず））も半導体レーザー（図は示さず）のいずれの照射も、latency, duration, AUC に有意な変化を与えなかった。

次に、2 種のレーザーの照射によるラット口腔粘膜の温度変化を検討した。30 秒間の CO₂ レーザー照射と半導体レーザーの照射は、いずれも上顎第一臼歯周囲歯肉の温度を有意に上昇させた。しかしながらその上昇温度は、半導体レーザーと比較して、CO₂ レーザー照射で有意に大きかった（CO₂ : $< 5.0 \pm 0.4$ °C, 半導体 : $< 0.6 \pm 0.1$ °C）（Fig. 5）。

今回使用した 2 種のレーザー照射では、いずれも半導体レーザーのガイド光が同時に照射される（ただし半導体レーザーとして使用したオペレーターFilio のレーザー光波長は、ガイド光波長と異なる）。そこで IR 群に対しガイド光のみを 30 秒間照射し、両側の TH 比への影響を検討した。ガイド光の 30 秒間照射は、照射前に左側に比較して有意に低かった右側の TH 比に影響を与えなかった（Fig. 6）。

2. IR 群の TH 比へのレーザー照射の影響

15 秒間の CO₂ レーザー照射は、照射前は左側に比較して有意に低かった右側の TH

比を、照射後 60 分間にわたりわずかに上昇させたが、その変化は有意でなかった（左側： $< 18.6 \pm 6.5 \%$ ，右側： $< 11.1 \pm 0.8 \%$ ）。両側間で TH 比を比較すると、右側の値は、左側と比較して BI だけでなく照射 60 分間にわたり有意に小さかった（Fig. 7A）。

30 秒間の CO_2 レーザー照射により、照射前には左側と比較して有意に低かった右側の TH 比が増加し（左側： $< 10.8 \pm 5.9 \%$ ，右側： $< 23.3 \pm 2.1 \%$ ），照射 30 分以降に両側間の有意な差は消失した。一方、左側の TH 比は照射後 60 分間にわたり有意な変化はなかった（Fig. 7B）。

600 秒間の CO_2 レーザー照射によっても、照射前には左側と比較して有意に低かった右側の TH 比が増加し、照射 30 分以降に両側間の有意な差は消失した（左側： $< 9.3 \pm 5.6 \%$ ，右側： $< 18.3 \pm 0.4 \%$ ）。一方、左側の TH 比には照射後 60 分間にわたり有意な増加はなかった（Fig. 7C）。

一方、30 秒間と 600 秒間の半導体レーザー照射により、照射前に左側と比較して有意に低かった右側の TH 比は変化せず、BI だけでなく照射後 60 分間にわたり両側間に有意な差があった。一方、左側の TH 比は、照射後 60 分間にわずかに上昇したが、その変化は有意でなかった（30 秒：左側： $< 16.8 \pm 1.1 \%$ ，右側： $< 13.8 \pm 2.4 \%$ ；600 秒：左側： $< 28.7 \pm 9.5 \%$ ，右側： $< 14.3 \pm 5.1 \%$ ）（Fig. 7D & E）。

3. PI-D1 群，PI-D3 群，PI-D7 群における TH 比

ラットの上顎右側第一臼歯に装置装着を行った直後に 30 秒間レーザー照射し、その 1 日後、3 日後、7 日後に両側の開口反射活性を検討した (Fig. 8). CO_2 レーザーの照射 1 日後の TH 比 (PI-D1: $111.2 \pm 4.7 \%$) は、未照射 (D1: $72.5 \pm 3.7 \%$) と比較して有意に大きかった. レーザー照射を行わなくても装置装着 3 日後 (D3 群) と 7 日後 (D7 群) の TH 比は、経日的に増加した. その結果、D3 群と PI-D3 群間、D7 群と PI-D7 群間に有意な TH 比の差はなかった.

半導体レーザーの照射 1 日後の TH 比 (PI-D1: $97.2 \pm 9.6 \%$) も、未照射 (D1: $60.2 \pm 4.7 \%$) と比較して有意に大きかった (Fig. 9). その後 Fig 8 と同じようにレーザー照射を行わなくても装置装着 3 日後 (D3 群) と 7 日後 (D7 群) の TH 比は、経日的に増加したため、D3 群と PI-D3 群間、D7 群と PI-D7 群間に有意な TH 比の差はなかった.

考察

本研究では、矯正力負荷に伴う疼痛に対し、光源と波長の異なる歯科用レーザーを用いて疼痛緩和が可能であるかを検討した。今まで報告されてきた歯科用レーザーの疼痛緩和の評価に対しては、臨床研究では VAS 法を用いた評価⁸⁻¹¹⁾や、基礎研究では動物のグルーミングの評価^{12,13)}であり、いずれも統一した見解が得られていない。そのため、歯科用レーザーの鎮痛効果を定量評価するために、矯正力負荷に伴う疼痛を直接的に定量評価可能な動物モデルを使用し、検討を行う必要があると考えた。本研究で用いたモデルは、矯正力の負荷による疼痛を再現するために、臨床で頻用される Ni-Ti クローズドコイルスプリングを使用し実験的矯正力を負荷した。IR 群において、矯正力が負荷された右側の TH 比は有意に低下した (Fig. 6 & 7)。この結果は、矯正力によって装置装着側に炎症性疼痛が生じていることを示唆する¹⁶⁻¹⁸⁾。このような動物モデルを用いて、歯科用レーザー照射による鎮痛効果を検討したが、レーザー照射自体が開口反射活性に影響を与える可能性も考えられた。その点を検討するため、矯正力を負荷していない control 群へのレーザー照射をまず行い開口反射活性を検討した。上顎右側第一臼歯周囲粘膜にレーザーを照射する際、左側はシリコーンゴム印象材により被覆することにより遮光した。これにより、レーザー照射による両側の開口反射活性への影響を検討することが可能となった。得られた結果より、2 種のレーザーとも両側の TH 比に有意な変化を与えなかった (Fig. 3)。

次に control 群において、いずれのレーザーにも使用されているガイド光の影響に

について検討を行った．ガイド光はレーザー照射野よりも一回り大きい領域に照射され，照射周囲組織の防護を含めた安全対策のために使用される¹⁹⁾．このガイド光は，レーザー照射の際に同時に照射される．そこで IR 群のラットに対し，ガイド光のみを照射をした (Fig. 6)．IR 群は矯正力負荷 1 日後のラットであり，TH 比は右側が左側に比較して有意に小さかった．ガイド光を照射した直後から照射 60 分後まで右側の TH 比は左側により小さく，ガイド光の照射は開口反射活性に影響しないと考えられる．

このような条件を確認後，2 種の歯科用レーザー照射が実験的な矯正力負荷に伴う疼痛に対して緩和効果を持つかを検討した．まず，矯正力負荷に伴う疼痛へのレーザー照射の影響として，CO₂ レーザーは 15 秒間照射では右側 TH 比に有意な変化を与えなかったが，30 秒間と 600 秒間の照射では 30～60 分後に右側 TH 比が有意に増加した (Fig. 7A-C)．この結果は，CO₂ レーザーが実験的矯正力によって惹起された疼痛に対し，即時的な鎮痛効果を発揮したと考えられる．一方，半導体レーザーは，CO₂ レーザーと同時間の照射を行っても有意な鎮痛効果を示さなかった (Fig. 7D & E)．

本研究で使用した CO₂ レーザーは，水への吸収係数が大きい組織表面吸収型²⁰⁾であり，組織表面下 0.5 mm 程度^{21,22)}で光エネルギーが吸収され，組織内部には熱エネルギーが深達されと考えられている．また，CO₂ レーザー照射により生じた熱エネルギーは疼痛部位の体表温度を上昇させ，局所血流の増大に伴う疼痛物質の排除，および炎症性物質の産生抑制をする可能性があると考えられている¹⁵⁾．一方，半導体レー

ザーは水への吸収係数が小さい組織透過型²⁰⁾であり，組織内部 4.0 mm 程度²³⁾へ光が侵達し，細胞や神経のミトコンドリアに作用すると考えられている．

どちらも疼痛緩和が可能であると報告はあるものの，一般に臨床では，CO₂ レーザーは組織蒸散などに用いられ，鎮痛効果は半導体レーザーによって得られることが多いと報告され，本研究の結果と異なる．

その理由については次のように考えられる．半導体レーザーの鎮痛効果についてはこれまで関節炎モデルラット^{24,25)}や神経損傷ラット²⁶⁾を用いて報告されてきた．これらの報告では，関節炎発症のためにカラギーナンやパパインなどの起炎物質を用いて病態モデルが作製され，発症機序として IL-1, IL-6, TNF α といった炎症性サイトカインが関与すると考えられている^{24,25)}．このように，矯正力を負荷することで疼痛を誘発した本研究とはその誘発方法が全く異なり，発痛の機序やそのケミカルメディエーターも異なることが考えられる．さらに多くの関節炎モデルでは，疼痛をグルーミングで評価しており，本研究の評価方法と大きく異なる．今後，半導体レーザーによる疼痛抑制機序を明らかにする上で，関節炎モデルと本研究の結果の違いを解析することで有用な知見が得られることが期待される．

PI-D1 群において矯正力負荷直後に CO₂ レーザーや半導体レーザーを照射すると TH 比が増加したのに対し，PI-D7 群においては TH 比が減少した点は興味深い．レーザー照射 7 日後には，右側の TH 比は左側に比較して有意に上昇した．この原因は，三叉神経節や三叉神経脊髄路核などの変調¹⁴⁾による脱感作が関与する可能性があり，

今後さらにそのメカニズムを明らかにする必要がある。

今回指標にしている TH 比に関して、顎二腹筋前腹の筋活動が正常に行われているか否かが重要である。そこで、開口反射誘発閾値を測定したのち、閾上刺激 ($\times 1.5$, $\times 2.0$, $\times 3.0$) によって誘発された開口反射の顎二腹筋活動 (latency (ms), 活動時間: duration (ms), 筋活動強度: area under the curve (AUC (% of Threshold (Th))) により、実験的矯正力の開口反射活性に及ぼす影響を検討した。閾値刺激において誘発された開口反射の latency が一定であれば、刺激に応答した反応が安定して記録され自発行動などが混在しないことを意味する^{14,27)}。同様に duration と AUC の安定は、5 回の連続刺激の個々の刺激が他の刺激応答性に影響を与えず、適正な刺激間隔が設定されていることを意味する。正常な反射では刺激強度に応じて反応量が増大^{14,27)}することから、本研究でも開口反射活性の刺激強度応答性を確認している。さらに、刺激強度応答性は反射にかかわる器官の器質的変化が生じていないことへの確認^{14,27)}ともなる。本実験でも各群において、刺激強度の上昇に伴い、latency (ms) は低下、duration (ms) と AUC (% of Th) はともに上昇した (Fig. 4)。これらの結果より、顎二腹筋の筋活動は正常に機能したと考えられる。

本実験の結果より、CO₂ レーザーは即時的な鎮痛効果を発揮したのに対し、半導体レーザーではこのような効果はみられなかった。前述したように両者は侵達距離やエネルギーの侵達様式が異なることが知られている。今後、これらの差から矯正力負荷に伴う疼痛のメカニズムを解明し、その制御に役立てていきたいと考えている。

結論

本モデルは、実験的矯正力による歯の移動に伴う疼痛に対し、歯科用レーザーの鎮痛効果を定量的に評価することが可能であった。今回使用した CO_2 レーザーと半導体レーザーは生体反応の異なるレーザーであり、鎮痛効果に異なった結果が得られた。矯正力負荷による疼痛が生じたラットに対し、 CO_2 レーザーを照射すると即時的な鎮痛効果が得られた。一方、装置装着直後にレーザーを照射すると、その1日後に両レーザーとも矯正力負荷に伴う疼痛を抑制した。このような2種のレーザー間における効果の差やそのメカニズムを明らかにすることは、レーザーの作用機序を明らかにする一助になると考えられる。

謝 辞

本論文を執筆するにあたり，全過程において御指導いただきました明海大学歯学部形態機能成育学講座歯科矯正学分野 須田直人教授，ならびに，明海大学歯学部病態診断治療学講座薬理学分野 安達一典教授，明海大学歯学部形態機能成育学講座生理学分野 村本和世教授，明海大学歯学部機能保存回復学講座保存治療学分野 横瀬敏志教授に深く感謝申し上げます．また，本研究に対して多くのご協力をいただいた明海大学歯学部形態機能成育学講座歯科矯正学分野の教室員の皆様，ならびに明海大学歯学部病態診断治療学講座薬理学分野の皆様に厚く御礼申し上げます．

引用文献

- 1) Scheurer PA, Firestone AR and Bürgin WB : Perception of pain as a result of orthodontic treatment with fixed appliances. *Eur J Orthod* **18**, 349-57, 1996
- 2) 多田 勉：歯の移動について．In：矯正臨床の基礎．与五沢文夫編，初版，クインテッセンス出版，東京，pp110-159，2008
- 3) Fang J, Li Y, Zhang K, Zhao Z and Mei L : Escaping the Adverse Impacts of NSAIDs on Tooth Movement During Orthodontics: Current Evidence Based on a Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)* **95**, e3256, 2016
- 4) Kehoe MJ, Cohen SM, Zarrinnia K and Cowan A : The effect of acetaminophen, ibuprofen, and misoprostol on prostaglandin E2 synthesis and the degree and rate of orthodontic tooth movement. *Angle Orthod* **66**, 339-349, 1996
- 5) Arias OR and Marquez-Orozco MC : Aspirin, acetaminophen, and ibuprofen: their effects on orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* **130**, 364-370, 2006
- 6) Diravidamani K, Sivalingam SK and Agarwal V : Drugs influencing orthodontic tooth movement: An overall review. *J Pharm Bioallied Sci* **4**, 299-303, 2012
- 7) Sandhu SS, Cheema MS and Khehra HS : Comparative effectiveness of pharmacologic and nonpharmacologic interventions for orthodontic pain relief at peak pain intensity: A Bayesian network meta-analysis. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* **150**, 13-32, 2016
- 8) 細田章代，細田 裕，佐藤恭道，小林一行，櫻庭栄一，横田剛志，山口博康，中

村治郎, 新井 高 : 歯の移動時に生じる疼痛に対する Nd : YAG レーザーの効果.

日レーザー歯会誌 **11**, 22-26, 2000

- 9) Fujiyama K, Deguchi T, Murakami T, Fujii A, Kushima K and Takano-Yamamoto T :
Clinical Effect of CO₂ Laser in Reducing Pain in Orthodontics. Angle Orthod **78**, 299-303,
2008
- 10) Furquim RD, Pascotto RC, Rino Neto J, Cardoso JR and Ramos AL : Low-level laser
therapy effects on pain perception related to the use of orthodontic elastomeric separators.
Dental Press J Orthod **20**, 37-42, 2015
- 11) Turhani D, Scheriau M, Kapral D, Benesch T, Jonke E and Bantleon HP : Pain relief by
single low-level laser irradiation in orthodontic patients undergoing fixed appliance
therapy. Am J Orthod Dentofacial Orthop **130**, 371-377, 2006
- 12) Zeredo JL, Sasaki KM, Takeuchi Y and Toda K : Antinociceptive effect of Er:YAG laser
irradiation in the orofacial formalin test. Brain Res **1032**, 149-153, 2005
- 13) Pozza DH, Fregapani PW, Weber JB, de Oliveira MG, de Oliveira MA, Ribeiro Neto N
and de Macedo Sobrinho JB : Analgesic action of laser therapy (LLLT) in an animal
model. Med Oral Patol Oral Cir Bucal **13**, 648-52, 2008
- 14) Sasaki A, Hasegawa N, Adachi K, Sakagami H and Suda N : Orthodontic
treatment-induced temporal alteration of jaw-opening reflex excitability. J Neurophysiol
118, 2289-2295, 2017

- 15) 榎原絵理, 榎原正人, 坂本英治, 鱒見進一 : 顎関節周囲への CO₂ レーザー照射時における顔面皮膚表面温度変化の検討. 日レーザー歯会誌 **15**, 67-72, 2004
- 16) Shibazaki T, Yozgatian JH, Zeredo JL, Gonzales C, Hotokezaka H, Koga Y and Yoshida N : Effect of celecoxib on emotional stress and pain-related behaviors evoked by experimental tooth movement in the rat. Angle Orthod **79**, 1169-1174, 2009
- 17) Kvinnsland I and Kvinnsland S : Changes in CGRP-immunoreactive nerve fibers during experimental tooth movement in rats. Eur J Orthod **12**, 320-329, 1990
- 18) Sood M, Bhatt P and Sessle BJ : Mechanical and thermal hypersensitivities associated with orthodontic tooth movement: a behavioral rat model for orthodontic tooth movement-induced pain. J Oral Facial Pain Headache **29**, 60-69, 2015
- 19) 高森一乗, 大橋英夫, 加藤純二, 永井茂之, 吉田 格, 大浦教一, 津久井 明, 和賀正明, 大串貫太郎, 天谷哲也, 田上順次, 篠木 毅 : アンケート調査から見えるレーザー歯科治療の医療安全管理. 日レーザー歯会誌 **26**, 73-75, 2015
- 20) 加藤純二 : 一からわかるレーザー歯科治療. 日レーザー歯会誌 **19**, 138-144, 2008
- 21) 皆川 仁 : 総論. In : <新版>やさしいレーザー治療 硬・軟組織およびインプラントへの応用. 皆川 仁編, 初版, クインテッセンス出版, 東京, pp10-14, 2006
- 22) 久保勝俊, 杉田好彦, 前田初彦 : レーザーと生体応答 ―病理学の立場から―. 日レーザー歯会誌 **20**, 174-178, 2009
- 23) 栗津邦男 : 赤外レーザー光の医療応用最前線. レーザー研究 **28**, 291-297, 2000

- 24) Pallotta RC, Bjordal JM, Frigo L, Leal Junior EC, Teixeira S, Marcos RL, Ramos L, Messias Fde M and Lopes-Martins RA : Infrared (810-nm) low-level laser therapy on rat experimental knee inflammation. *Lasers Med Sci* **27**, 71-78, 2012
- 25) Alves AC, Vieira R, Leal-Junior E, dos Santos S, Ligeiro AP, Albertini R, Junior J and de Carvalho P : Effect of low-level laser therapy on the expression of inflammatory mediators and on neutrophils and macrophages in acute joint inflammation. *Arthritis Res Ther* **15**, R116, 2013
- 26) Chen YJ, Wang YH, Wang CZ, Ho ML, Kuo PL, Huang MH and Chen CH : Effect of low level laser therapy on chronic compression of the dorsal root ganglion. *PLoS One*, **9**, e89894, 2014.
- 27) Noguchi M, Kurose M, Yamamura K, Inoue M, Taguchi Y, Sessle BJ and Yamada Y : Unilateral application of an inflammatory irritant to the rat temporomandibular joint region produces bilateral modulation of the jaw-opening reflex. *Brain Res Bull* **67**, 182-188, 2005

Figure legends

Fig. 1 Application of experimental orthodontic force and recording of jaw-opening reflex (A), and region of laser irradiation (B).

- A. A schematic drawing of application of experimental orthodontic force to the right maxillary first molar by placement of nickel-titanium closed coil spring between the incisors and right maxillary first molar. Electrodes were placed for electromyographic (EMG) recording from bilateral anterior digastric (AD) muscles as well as for electrical stimulation to the bilateral maxillary first molar gingiva. Arrows: electrodes for EMG recording from AD, arrowheads: electrodes for electrical stimulation
- B. The region for laser irradiation by CO₂ or diode laser was expressed as green circle (ϕ 14.6 mm, 1.67 cm²). The left molars and gingiva were covered by a silicone rubber impression material to avoid laser irradiation (blue square).

Fig. 2 Recording of jaw-opening reflex.

Representative recording trace of physiological features (e.g., EKG and EMG) of isoflurane-anesthetized rat. EMG trace contained right side stimulation-induced jaw-opening reflexes (square). These jaw-opening reflexes were induced by suprathreshold ($\times 1.5$, $\times 2.0$, $\times 3.0$) intensity. Squared region of LAD trace was processed (smoothed and

rectified) then enlarged to indicate the EMG features (e.g., latency, duration and area under the curve (AUC)). Arrow heads: electrical stimulation, EKG: electrocardiogram, EMG: electromyogram, LAD: left anterior digastric muscle, RAD: right anterior digastric muscle, AUC: area under the curve during duration

Fig. 3 Stability of the jaw-opening reflex excitability after laser irradiation in rats without applying orthodontic force.

There were no significant differences between the left and right side thresholds for inducing jaw-opening reflex excitability. And application of neither CO₂ (A: 30 s, B: 600 s) nor diode (C: 30 s, D: 600 s) laser irradiations failed to alter the jaw-opening reflex excitability. BI denotes before laser irradiation. Each TH ratio (%) was represented by threshold for inducing the jaw-opening reflex in the left and right sides (μ A) / threshold for inducing the jaw-opening reflex in the left side at BI (μ A). Post 0, 30, and 60 denote 0, 30 and 60 mins after laser irradiation, respectively.

Fig.4 Representative data of EMG features those induced by threshold and suprathreshold stimulations in control groups after 30 s of CO₂ laser irradiation.

The excitability of all three EMG features were increased in stimulation intensity dependent-manner and were observed as significant decrease of latency and significant

increase of duration and AUC. Application of orthodontic force or laser irradiation did not alter the relationship between stimulation intensity and EMG excitability. AUC: area under the curve during duration

Fig 5. Temperature alteration of laser irradiated region.

Irradiation with CO₂ and diode laser significantly raised the surface temperature of the right maxillary first molar gingiva. Pre and Post denote pre- and post-irradiation, respectively.

Paired t-test, *: $p < 0.05$, Student's t-test, #: $p < 0.05$

Fig. 6 Effect of guide light irradiation on orthodontic treatment-induced excitation of the jaw-opening reflex excitability.

The application of orthodontic-force for one day significantly reduced the right side threshold for inducing jaw-opening reflex and the application of guide light for 30 s to the maxillary first molar region failed to alter the reduction of the threshold for 60 min. BI denotes before laser irradiation. Post 0, 30, and 60 denote 0, 30 and 60 mins after laser irradiation, respectively. Each TH ratio (%) was represented by threshold for inducing the jaw-opening reflex in the right side (μA) / threshold for inducing the jaw-opening reflex in the left side at BI (μA).

Left vs right: two-way ANOVA, side: $p < 0.05$, time: $p < 0.05$, side \times time, #: $p < 0.05$;

one-way ANOVA, Bonferroni *post hoc* test, *: $p < 0.05$: vs “BI of left”

Fig 7 Effect of CO₂ or diode laser irradiation on orthodontic treatment-induced excitation of the jaw-opening reflex excitability.

BI denotes before laser irradiation. Each TH ratio (%) was represented by threshold for inducing the jaw-opening reflex in the right side (μA) / threshold for inducing the jaw-opening reflex in the left side at BI (μA). Post 0, 30, and 60 denote 0, 30 and 60 mins after laser irradiation, respectively.

A. The application of orthodontic-force for one day significantly reduced the right side threshold for inducing jaw-opening reflex at BI and the application of CO₂ laser for 15 s to the maxillary first molar region failed to alter the reduction of the threshold for 60 min. The reduced right side threshold for inducing jaw-opening reflex was not altered after 15 s CO₂ irradiation (Post 30 - 60). Left vs right: two-way ANOVA, side: $p < 0.05$, time: $p < 0.05$, side \times time, #: $p < 0.05$; one-way ANOVA, Bonferroni *post hoc* test, *: $p < 0.05$: vs “BI of left”. The reduced right side threshold for inducing jaw-opening reflex at BI was significantly increased after 30 s CO₂ irradiation (Post 30 - 60).

Left vs right: two-way ANOVA, side: $p < 0.05$, time: $p < 0.05$, side \times time, #: $p < 0.05$; one-way ANOVA, Bonferroni *post hoc* test, *: $p < 0.05$: vs “BI of left”

B. The reduced right side threshold for inducing jaw-opening reflex (BI) was significantly

increased after 600 s CO₂ irradiation (Post 30 - 60).

Left vs right: two-way ANOVA, side: $p < 0.05$, time: $p < 0.05$, side \times time, #: $p < 0.05$;

one-way ANOVA, Bonferroni *post hoc* test, *: $p < 0.05$: vs “BI of left”

C. The reduced right side threshold for inducing jaw-opening reflex was not altered after 30 s

diode irradiation (Post 30 - 60).

Left vs right: two-way ANOVA, side: $p < 0.05$, time: $p < 0.05$, side \times time, #: $p < 0.05$;

one-way ANOVA, Bonferroni *post hoc* test, *: $p < 0.05$: vs “BI of left”

D. The reduced right side threshold for inducing jaw-opening reflex was not altered after 30 s

diode irradiation (Post 30 - 60).

Left vs right: two-way ANOVA, side: $p < 0.05$, time: $p < 0.05$, side \times time, #: $p < 0.05$;

one-way ANOVA, Bonferroni *post hoc* test, *: $p < 0.05$: vs “BI of left”

E. The reduced right side threshold for inducing jaw-opening reflex was not altered after 600

s diode irradiation (Post 30 - 60).

Left vs right: two-way ANOVA, side: $p < 0.05$, time: $p < 0.05$, side \times time, #: $p < 0.05$;

one-way ANOVA, Bonferroni *post hoc* test, *: $p < 0.05$: vs “BI of left”

Fig.8 Effect of CO₂ laser irradiation immediately after application of orthodontic-force on development of orthodontic treatment-induced excitation of the jaw-opening reflex excitability.

Thirty seconds of pre-irradiation by CO₂ laser significantly increased the right side threshold for inducing jaw-opening reflex (PI-D1) but this effect was not seen at three and seven days after pre-irradiation (PI-D3 and PI-D7). TH ratio (%) in D1, D3 and D7, were represented by threshold for inducing the jaw-opening reflex in the right side (μA) / threshold for inducing the jaw-opening reflex in the left side before laser irradiation (μA). TH ratio (%) in PI-D1, PI-D3 and PI-D7, were represented by threshold for inducing the jaw-opening reflex in the right side (μA) / threshold for inducing the jaw-opening reflex in the left side (μA).

Student's *t*-test, *: $p < 0.05$,

PI-D1: pre irradiation day 1. PI-D3: pre irradiation day 3. PI-D7: pre irradiation day 7.

Fig.9 Effect of diode laser irradiation immediately after application of orthodontic-force on development of orthodontic treatment-induced excitation of the jaw-opening reflex excitability.

Thirty seconds of pre-irradiation by diode laser significantly increased the right side threshold for inducing jaw-opening reflex (PI-D1) but this effect was not seen at three and seven days after pre-irradiation (PI-D3 and PI-D7). TH ratio (%) in D1, D3 and D7, were represented by threshold for inducing the jaw-opening reflex in the right side (μA) / threshold for inducing the jaw-opening reflex in the left side before laser irradiation (μA).

TH ratio (%) in PI-D1, PI-D3 and PI-D7, were represented by threshold for inducing the jaw-opening reflex in the right side (μA) / threshold for inducing the jaw-opening reflex in the left side (μA).

Student's *t*-test, *: $p < 0.05$

PI-D1: pre irradiation day 1. PI-D3: pre irradiation day 3. PI-D7: pre irradiation day 7.

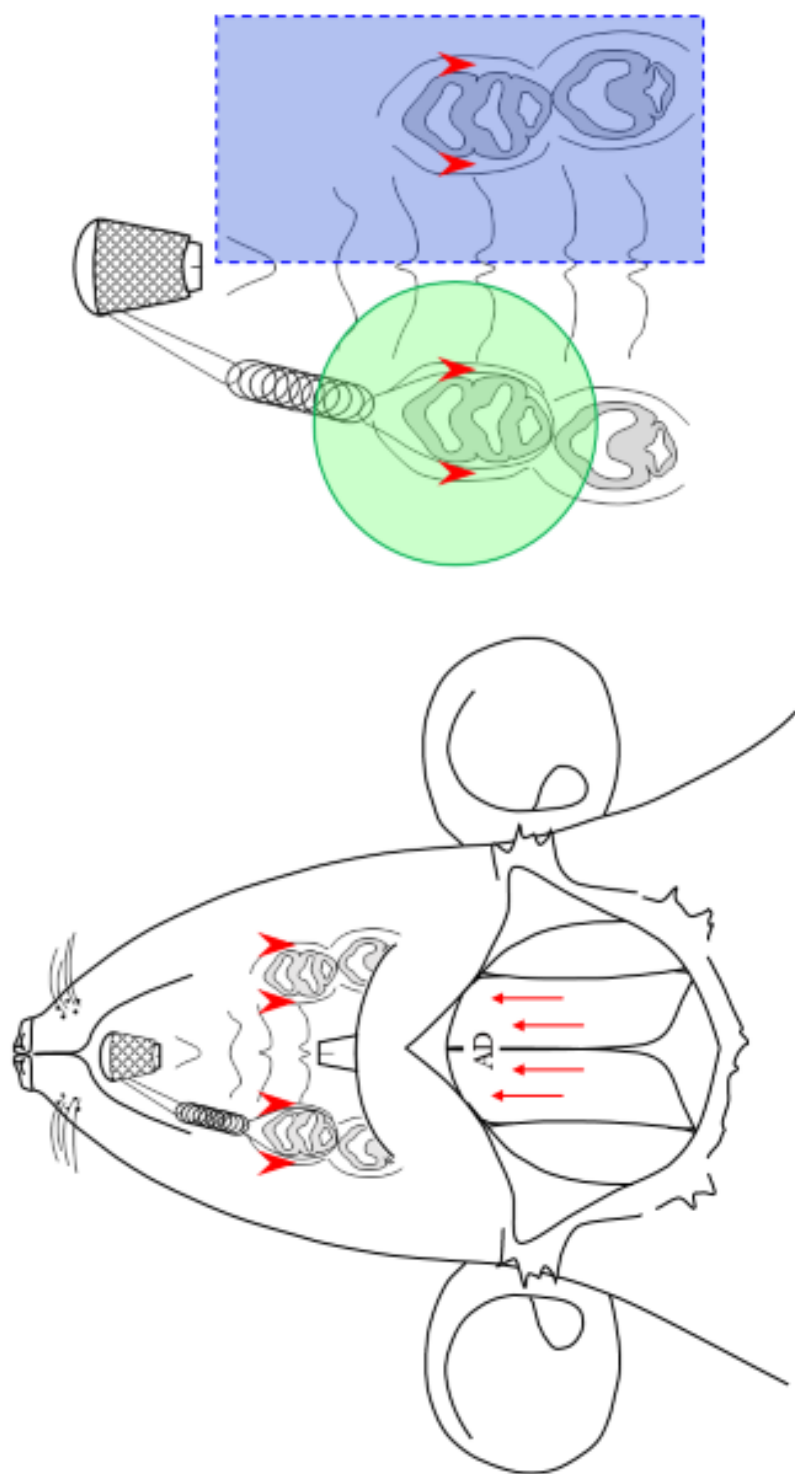
Fig 1

Fig 2

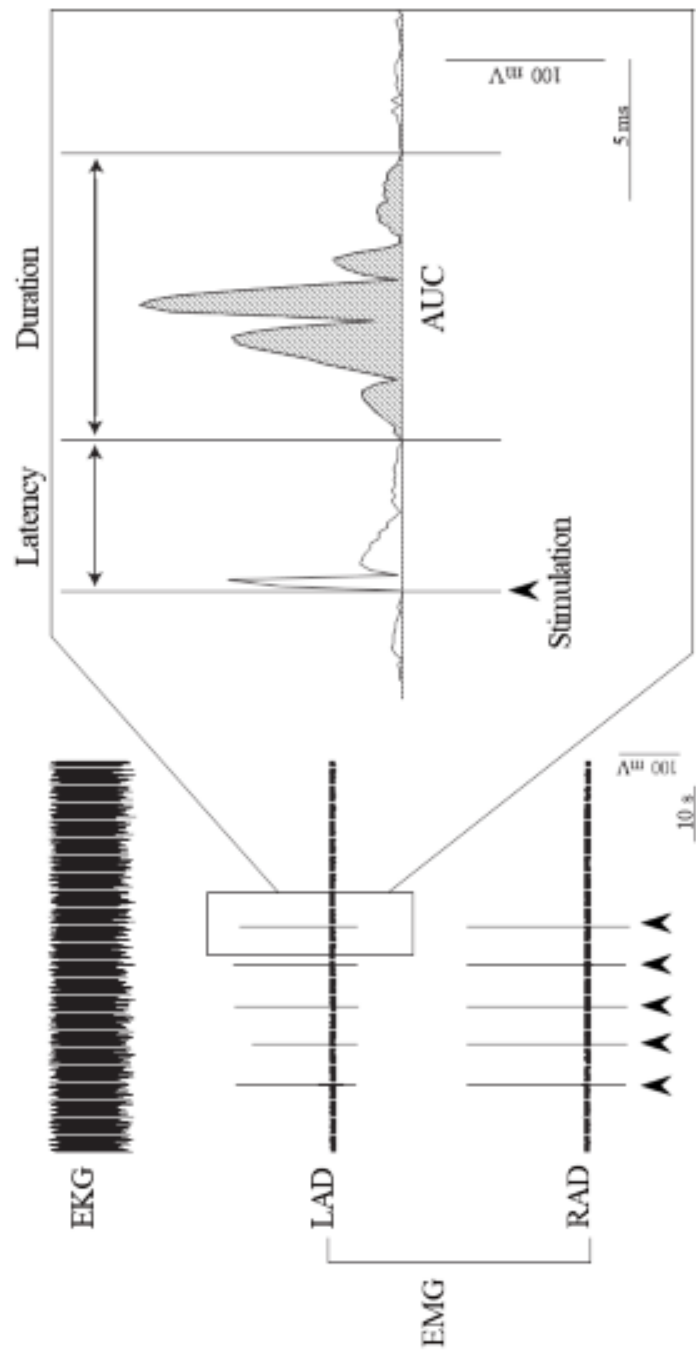


Fig 3

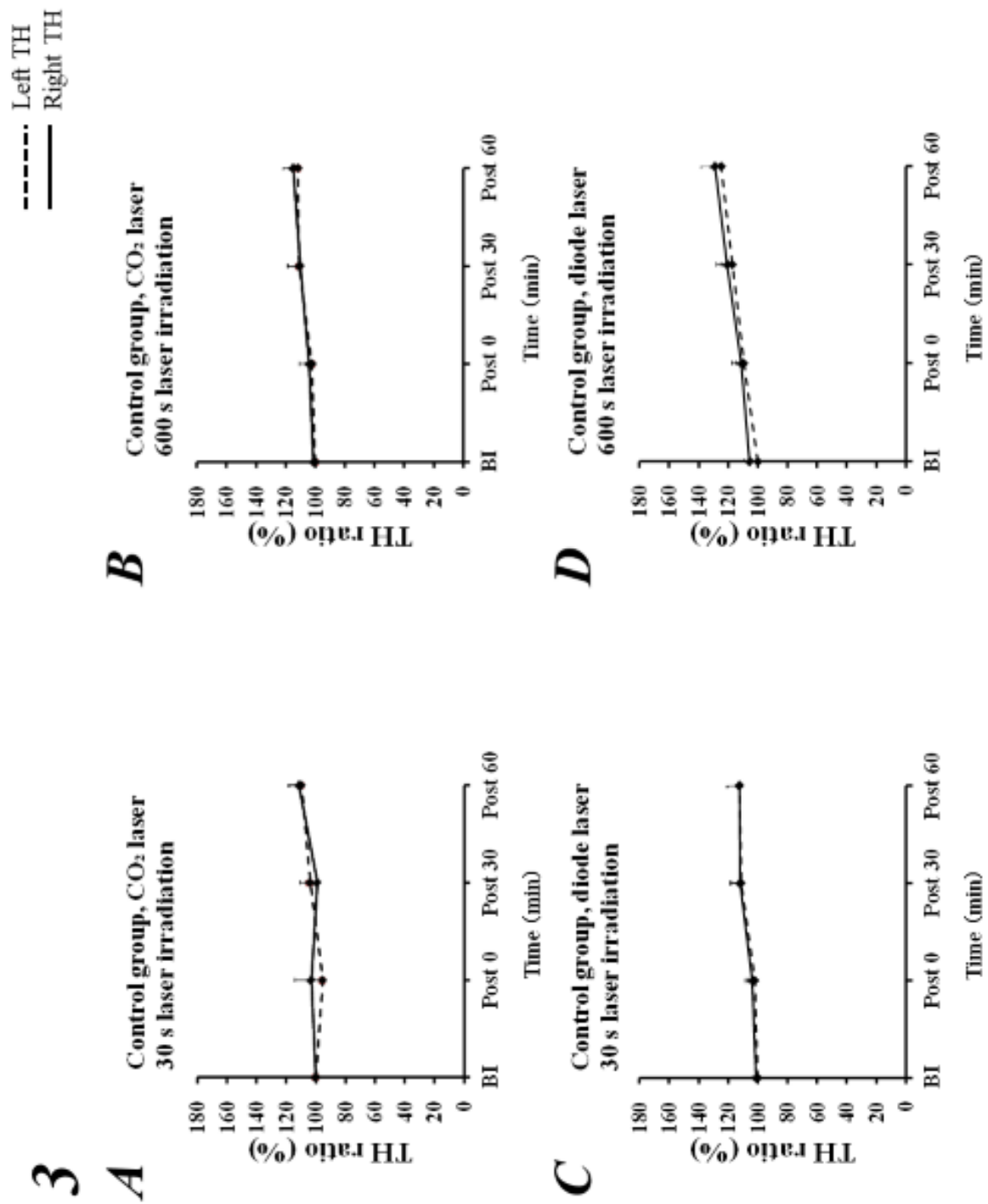


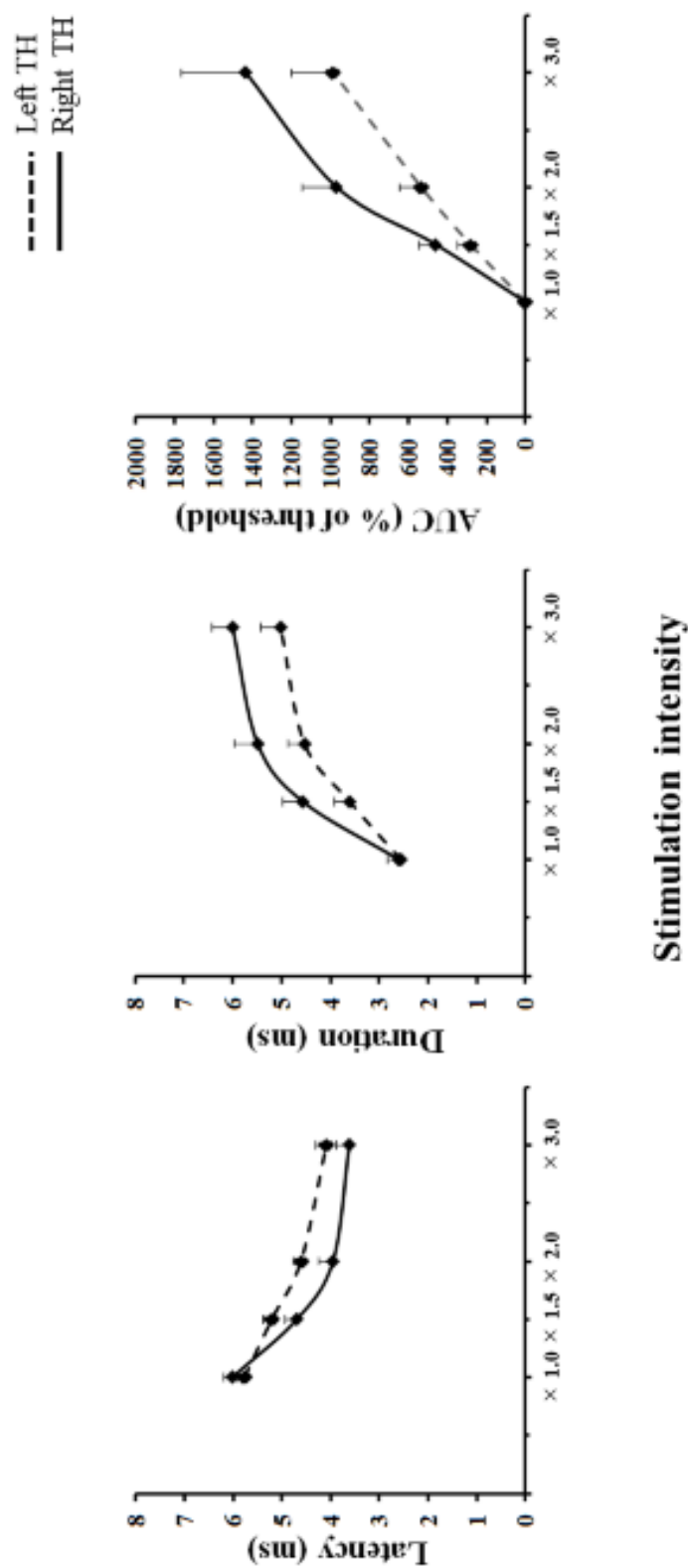
Fig 4

Fig 5

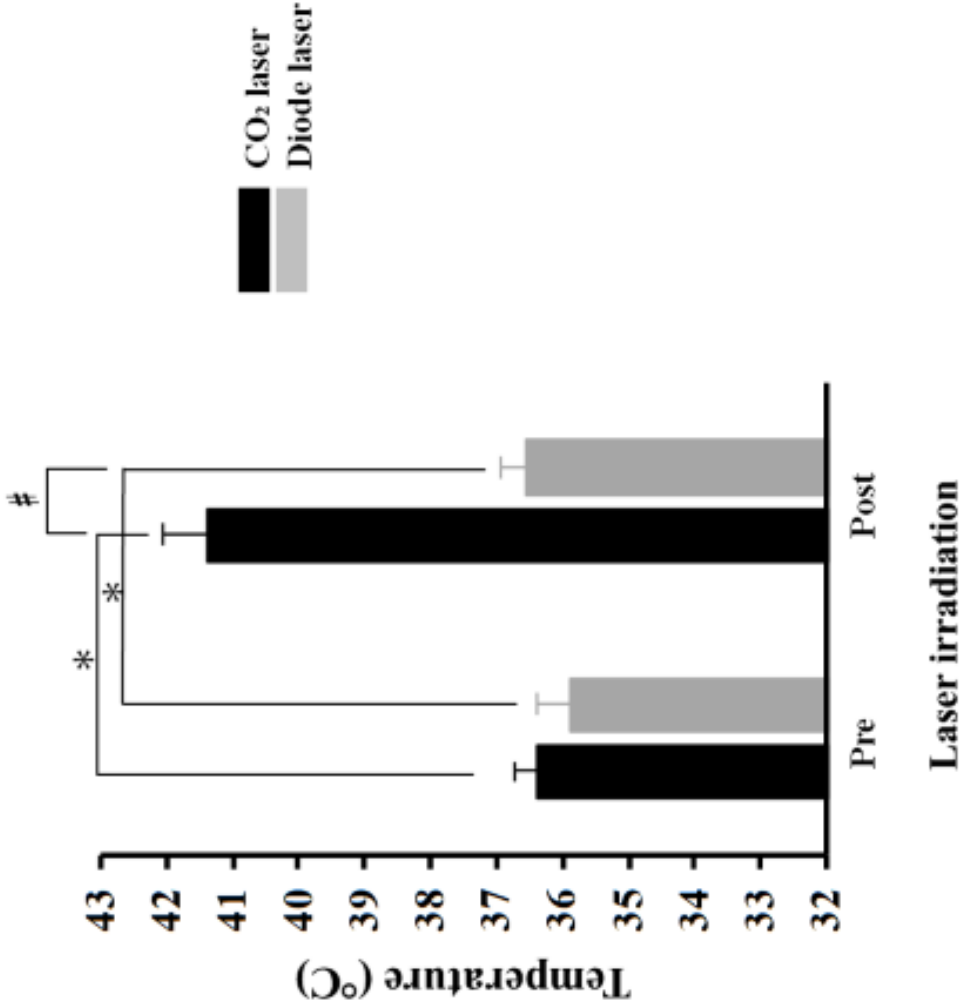


Fig 6

----- Left TH
 ————— Right TH

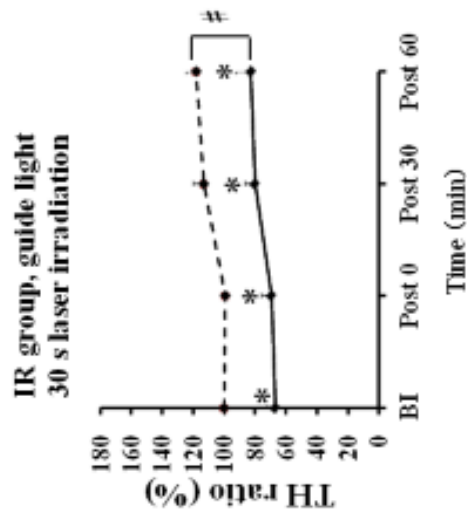


Fig 7

----- Left TH
 ————— Right TH

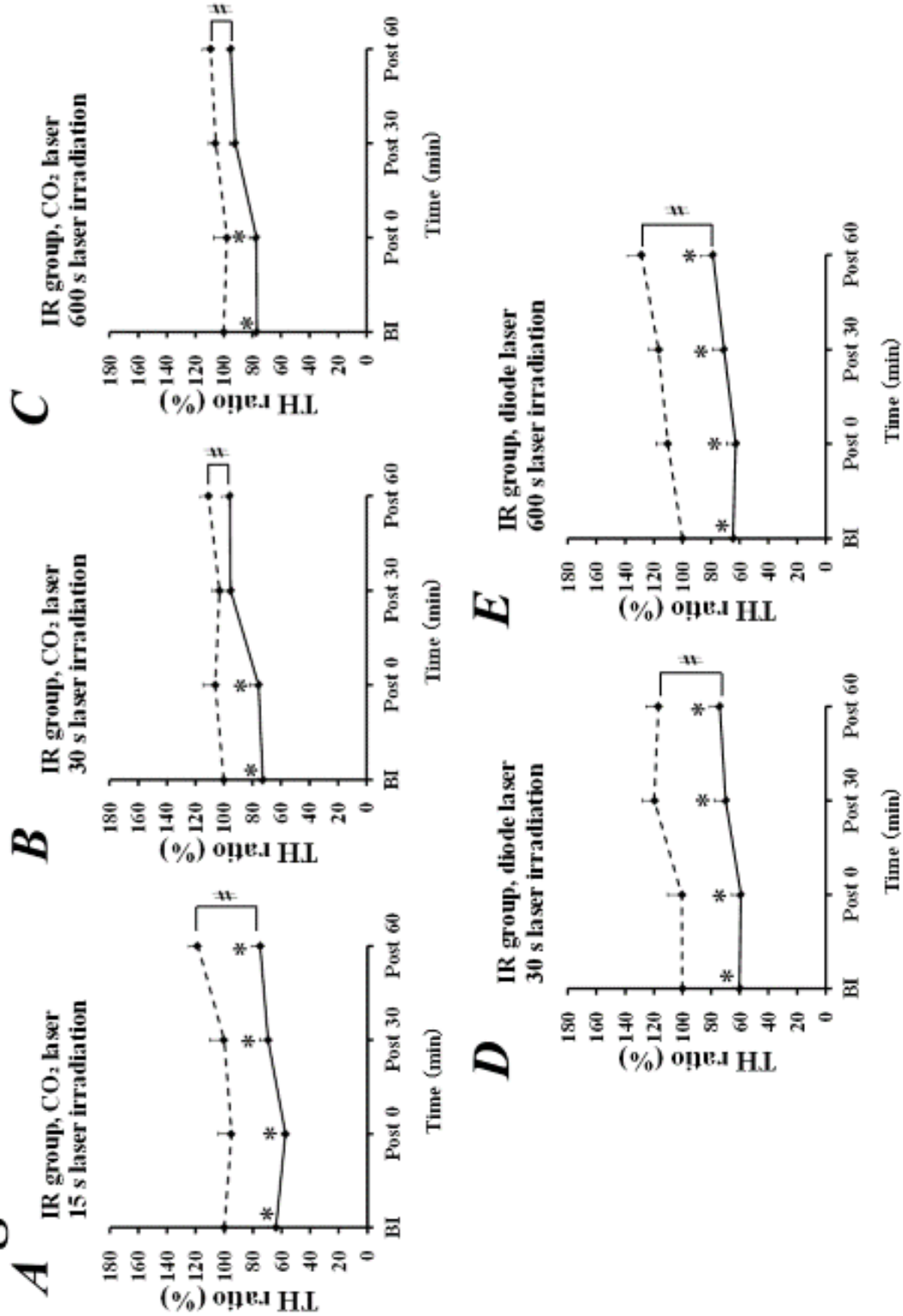


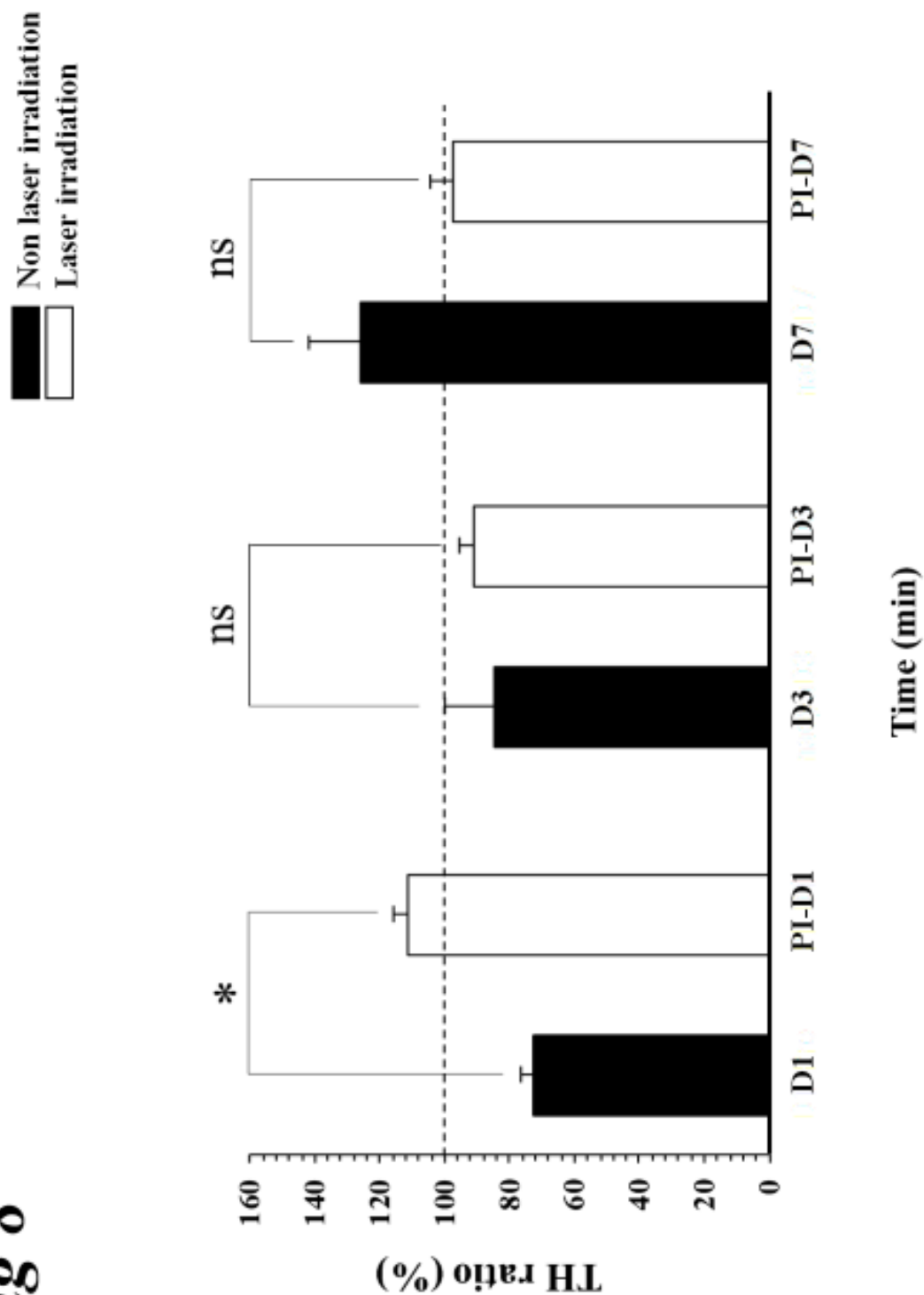
Fig 8

Fig 9